



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1589215** **A1**

(51) 5 G 01 N 33/53

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГНТ СССР

12 6 июля 1989

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4311926/28-14
(22) 30.09.87
(46) 30.08.90. Бюл. № 32
(71) Центральный научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
(72) Г.Ю.Митерев, М.С.Новикова, Т.И.Булычева, Е.М.Абакумов, В.Г.Исаев и Н.Г.Морозова
(53) 615.373 (088.8)
(56) Veerman A.J.P., Huismas L.D.R., van zantwijk ICH, 1985, Lenk. Les, v. 9, n 9, p. 1195-1200.
(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЦИДИВОВ ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА
(57) Изобретение относится к разделу медицины, в частности гематологии, и касается ранней доморфологической иммунологической диагностики рецидивов острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ). Цель изобретения - повышение точности ранней диагностики рецидива заболевания до появления его клинико-морфологических признаков. Способ выполняется следующим образом. В острой фазе заболевания с помощью панели моноклональных антител (МКА) выявляют дифференцировочные антигены, характерные для лимфобластов каждого больного, в реакции непрямой иммунофлуоресценции в микролуночной мо-

дификации разработана панель из МКА к антигенам: T6, T9, T10, CALLA, Ia, ИКО-11. Лейкозные лимфобласты получают из периферической крови или костного мозга больных в острой фазе заболевания. Учет реакции проводят с помощью люминесцентного микроскопа с дополнительным просмотром препаратов в фазовом контрасте. Аналогичным образом с той же панелью МКА проводят исследование антигенов лимфоцитов, выделенных из периферической крови больных в периоде ремиссии. Исследования повторяют регулярно на всем протяжении ремиссии с интервалом 1-4 мес. Появление лимфоцитов, положительно реагирующих хотя бы с одним из применяемых МКА в количествах, превышающих пределы их нормальных значений, являются предвестником начинающегося рецидива заболевания. Положительный эффект способа заключается в том, что предложенная панель МКА позволяет распознать лейкозные клетки 96% больных и проводить раннюю доморфологическую диагностику рецидивов заболевания в максимальном числе случаев по появлению на зрелых лимфоцитах любого из антигенов, характерных для лейкозных лимфобластов в остром периоде.

Изобретение относится к разделу медицины, в частности гематологии, и касается вопроса ранней доморфологической иммунологической диагности-

ки рецидивов острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ).

Цель изобретения - повышение точности ранней диагностики рецидива за-

PTO 2002-5059

S.T.C. Translations Branch

(19) **SU** (11) **1589215** **A1**

BEST AVAILABLE COPY

болевания до появления его клинико-морфологических признаков.

Способ осуществляют следующим образом.

В острой фазе заболевания с помощью разработанной панели МКА выявляют дифференцировочные антигены, характерные для лимфобластов каждого больного, в реакции непрямой иммуофлюоресценции. В периоде ремиссии с той же панелью МКА регулярно с интервалом в 1-4 мес проводят исследование морфологически зрелых лимфоцитов периферической крови. Появление лимфоцитов, положительно реагирующих хотя бы с одним из применяемых МКА в количествах, превышающих пределы их нормальных значений ($M + 36$), является предвестником начинающегося рецидива заболевания.

Исследование антигенов лейкозных лимфобластов проводят в реакции непрямой иммуофлюоресценции в микролуночной модификации с использованием шести препаратов МКА, входящих в разработанную панель. Лейкозные лимфобласты получают после лизирования эритроцитов из 5-10 мл гепаринизированной периферической крови или 1 мл костного мозга, взятых у больных в острой фазе заболевания. Суспензию доводят до концентрации $4 - 5 \times 10^6$ клеток в 1 мл раствора Хэнка и прикрепляют к поверхности стекла микролунок с помощью поли-L-лизина. Клетки обрабатывают сначала указанными препаратами МКА (по 20 мкл) при инкубации в течение 30 мин при 4°C , а затем после двукратного отмывания микролунок раствором Хэнка на клетки наносят ФИТЦ-меченые козьи антитела против мышинного γ -глобулина (по 20 мкл). После инкубации при 4°C в течение 30 мин препараты двукратно отмывают раствором Хэнка и в микролунок вносят по 5 мкл 50%-ного раствора глицерина. Препараты накрывают покровным стеклом и запаивают. Учет реакции проводят на люминесцентном микроскопе с контрольным просмотром клеток в фазовом контрасте. Дифференцировочные антигены лимфобластов определяют по наличию поверхностного свечения на клетках. Аналогичным образом с той же панелью МКА проводят исследование антигенов лимфоцитов, выделенных из периферической крови больных в периоде ремиссии с по-

мощью градиентного центрифугирования. Исследования повторяют регулярно на всем протяжении ремиссии с интервалом в 1-4 мес.

5 П р и м е р 1. Больной Б., 15 лет. Диагноз: острый лимфобластный лейкоз. Бластные клетки, выделенные из 5 мл гепаринизированной крови в остром
10 периоде болезни и исследованные с разработанной панелью МКА, содержали антигены Ia, ИКО-11, CALLA, T10, T9 (количество антиген положительных
15 клеток составило 91,55; 70,90 и 50% соответственно). Антиген T6 на лимфобластах больного не был выявлен. В момент констатации полной клинико-гематологической ремиссии, достигнутой через 2 мес, количество морфологически зрелых лимфоцитов крови, содержащих антигены Ia, ИКО-11, CALLA, T6, T9, T10 соответствовало нормальным значениям. Однако через 1 мес в
20 периоде полной клинико-гематологической ремиссии (при наличии в пунктате костного мозга 3% лимфобластов) при повторном исследовании лимфоцитов крови с той же панелью МКА было обнаружено повышение количества клеток, имеющих антигены ИКО-11 (68%) T10
30 (18%) при нормальном количестве лимфоцитов, содержащих антигены Ia, CALLA, T6, T9. Рецидив болезни был выявлен спустя 1,5 мес при морфологическом исследовании пунктата костного мозга (количество лимфобластов в нем составило 12,5% при последующем неуклонном прогрессировании заболевания).

35 П р и м е р 2. Больной Л., 18 лет. Диагноз: острый лимфобластный лейкоз. Бластные клетки, выделенные из 5 мл гепаринизированной крови в остром периоде болезни, при исследовании с разработанной панелью МКА
40 содержали антигены Ia, ИКО-11 (количество антиген-положительных клеток составило 70 и 85% соответственно). Антигены CALLA, T6, T9, T10 на лимфобластах больного не были выявлены. Через 1 мес после констатации полной
45 клинико-гематологической ремиссии (при наличии в пунктате костного мозга 4% лимфобластов) при исследовании морфологически зрелых лимфоцитов крови с той же панелью МКА наряду с нормальным количеством клеток, содержащих антигены Ia, CALLA, T6, T9 и T10, выявлялась увеличенная популяция лим-

фоцитов, содержащих антиген ИКО-11 (46%). Рецидив болезни был выявлен клинико-морфологическими исследованиями через 3 мес (количество бластных клеток в периферической крови 80%).

Указанные примеры показывают, что использование известного способа не позволило бы прогнозировать рецидив заболевания. Таким образом, предлагаемый способ позволяет повысить точность иммунологического прогнозирования рецидивов ОЛЛ до появления его клинико-гематологических признаков за счет использования для диагностики не одного, а нескольких МКА, направленных к различным дифференцировочным антигенам, выявляемым на лейкозных лимфобластах.

Способ может быть применен практически у всех больных ОЛЛ, так как с помощью разработанной панели МКА лейкозные клетки распознают в подав-

ляющем большинстве случаев (у 96% больных).

5 Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ прогнозирования рецидивов острого лимфобластного лейкоза путем выявления дифференцировочного антигена с помощью моноклональных антител на лейкозных лимфобластах в острый период и лимфоцитах в период ремиссии и при обнаружении этого антигена в период ремиссии в количествах, превышающих пределы их нормальных значений, прогнозируют рецидив заболевания, отличающийся тем, что, с целью повышения точности прогнозирования, для выявления антигенов используют комплекс специфических моноклональных антител, и при обнаружении одного или нескольких антигенов прогнозируют рецидив заболевания.

Составитель Р.Гуменюк

Редактор Ю.Петрушко

Техред М.Дидык

Корректор Л.Пилипенко

Заказ 2539

Тираж 513

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г.Ужгород, ул. Гагарина, 101

BEST AVAILABLE COPY